Chromatographie

Ref :
591 001

Ensemble pour chromatographie verticale

Français – p 1

Version : 0104

1 Description

L'ensemble se compose de :

- un auget semi-cylindrique en verre de 205 x 24 mm.

- une cuve rectangulaire en verre 229 x 229 x 76 mm avec couvercle en verre rodé.

- une cuve cylindrique en verre avec couvercle en verre rodé hauteur 305, Ø 89 mm.

- un cadre en fil métallique recouvert de nylon, façonné pour recevoir l'auget et se placer dans la cuve rectangulaire.

- un cadre de même matière pour la cuve cylindrique.

- une boîte de 100 feuilles de papier chromatographique 200 x 400 mm.

- un rouleau de 100 m du même papier en 50 mm de largeur.

2 Mode d'emploi

2.1 Analyse par chromatographie ascendante

Tracer un trait en travers d'une feuille, à 15 mm d'un grand côté. Deux largeurs de papier peuvent être utilisées (50 mm ou 180 mm) suivant la complexité de l'analyse. Le papier 180 mm sera taillé dans une des feuilles de 400 mm fournies avec l'ensemble.

Verser le solvant dans la cuve sur une hauteur de 10 mm. Couvrir la cuve avec le couvercle et laisser le solvant reposer jusqu'à ce que l'équilibre liquide-vapeur soit atteint.

Marquer le niveau du liquide sur la cuve.

Etirer à la flamme un tube de verre et briser la partie amincie pour constituer une fine pipette. Plonger cette pipette dans l'échantillon à analyser dissout dans le solvant.

Toucher le papier au niveau du trait avec l'extrémité de la pipette, assez légèrement pour n'y faire qu'une petite tache. (On peut préalablement s'assurer d'un écoulement correct en touchant du doigt le bout de la pipette qui doit y déposer une petite goutte).

Evaporer le solvant en employant au besoin, pour gagner du temps, un séchoir électrique de ménage. Si la concentration des composants de l'échantillon est faible, on peut recommencer l'opération plusieurs fois en ayant soin de sécher les taches à chaque fois et de les superposer correctement.

Fixer le papier sur le cadre et l'introduire rapidement dans la cuve pour ne pas modifier l'atmosphère qui y règne. Remettre le couvercle et laisser la séparation s'opérer.

La séparation est caractérisée par le rapport :

$$\frac{\text{Distance parcourue par les composants de l'échantillon}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

Ce rapport est une constante caractéristique de l'échantillon considéré. On le désigne par le symbole R_f.

Lorsqu'on a besoin d'en connaître la valeur, il est commode de laisser le solvant monter sur 10 cm.

Il arrive qu'un solvant unique n'assure pas une séparation suffisante. Dans ce cas, on peut utiliser la méthode dite "chromatographie à deux dimensions" :

- Marquer le papier comme ci-dessus, puis tracer une 2ème ligne à 90° en partant du coin droit.

- Opérer comme ci-dessus pour la 1ère séparation avec le premier solvant. Retirer le papier, le sécher, le suspendre au cadre suivant la 2ème direction et l'introduire à nouveau dans la cuve contenant le 2ème solvant. La séparation reprend mais dans une direction perpendiculaire à la 1ère.

Cette méthode est couramment utilisée pour la séparation des amino-acides.

Dans beaucoup de cas, les composants de l'échantillon sont colorés (ex. la chlorophylle) et sont facilement repérés sur le papier.

Dans d'autres cas, ils doivent être transformés en composants visibles en lumière ultraviolette.

La méthode la plus courante consiste à pulvériser sur le papier du solvant contenant le "révélateur" approprié.

Par exemple, pour les amino-acides, le "révélateur" sera de la ninhydrine dissoute dans du butanol ou de l'acétone.

2.2 Analyse par chromatographie descendante

Lorsque la séparation se fait trop lentement par la méthode précédente, une technique inverse peut être efficace.

Dans le cas de la chromatographie ascendante le mouvement du solvant peut être arrêté par la force de gravitation qui agit sur lui.

Dans la chromatographie descendante, les effets de la gravité renforcent ceux de la capillarité. Il s'ensuit 2 conséquences : la vitesse de déplacement du solvant augmente et ce courant peut être rendu continu.

3 Expériences de chromatographie

3.1 Comparaison du pouvoir de séparation de différents solvants

Avant de procéder à une séparation, il est nécessaire de trouver le ou les solvant (s) le (s) plus approprié (s).

Constituer un échantillon en mélangeant en parties égales les solutions à 0,01 % d'indophénol, jaune d'alizarine et rouge soudan dans le toluène.

En faire plusieurs taches sur une bande de papier pour chromatographie enduit de gel de silice et ajouter au centre de la tache une goutte de chaque solvant ou mélange de solvants.

La séparation se produit comme dans la chromatographie radiale et l'étalement des taches permet de déterminer le meilleur solvant.

Voici, classés par ordre croissant de pouvoir dispersif les principaux solvants utilisés :
- hexane- tétrachlorure de carbone - benzène - toluène - chlorure de méthylène - chloroforw - éther éthylique - acétate d'éthyle - acétone - isopropanol - éthanol - méthanol - eau.

3.2 Séparation des pigments foliaires

Les vitesses de déplacement des taches de chacun des pigments sont très différentes et la séparation s'opère parfaitement en chromatographie ascendante ou radiale.

3.2.1 Préparation de la solution

Mettre dans un mortier quelques grammes de feuilles fraîches, ajouter quelques pincées de sable siliceux (sable de Fontainebleau) et 20 ml environ d'acétone.

Triturer avec le pilon. La présence de sable provoquant le déchirement des parois cellulaires permet d'obtenir rapidement une solution vert foncé contenant l'ensemble des pigments.

3.2.2 Solvant

Mélanger loin de toute flamme dans une éprouvette graduée :

- 80 ml de benzène
- 20 ml d'éther de pétrole
- 18 ml d'acétone.

Opérer ensuite comme il est dit au § 2.1

Nota :
L'importance respective des taches dépend de la nature des échantillons foliaires étudiés. Les proportions des différents pigments variant notablement d'une espèce à l'autre. D'autre part, en plus des pigments fondamentaux chlorophylle b, chlorophylle a, xantophylle et carotène, qui se succèdent dans cet ordre de bas en haut, on peut voir apparaître des taches supplémentaires qui trahissent, par exemple, l'existence de plusieurs xantophylles.

3.3 Séparation des cations par chromatographie descendante

Les échantillons seront des solutions de nitrate à 1 %.

Solvant : Acétone 85 % - HC1 concentré 8 % - eau 5 %

Mélanges à pulvériser :

- Mélange n° 1 : acide kojique 0,5 g - 8-quinolinol 2,5 g - éthanol à 60 % 500 ml pour observation en lumière U.V.

- Mélange n° 2 : solution de sulfure d'ammonium, pour observation en lumière blanche.

Sécher le papier entre les 2 pulvérisations.

Tableau des couleurs données par les différents cations :

CATION	COULEUR			CATION	COULEUR	
	en lumière UV	en lumière blanche			en lumière UV	en lumière blanche
A1+++	Blanc jaune	Incolore		Mn++	Noir	Brun clair
Sb+++	Incolore	Orange		Hg++	Noir	Noir
As+++		Jaune		Hg+	Brun noir	Brun
Ba+++	Blanc bleuté	Incolore		Mo++++++	Brun	Incolore
Be++	Blanc			Ni++	Noir	Noir
Bi+++	Brun foncé	Noir		K+	Violet	Incolore
Cd++	Jaune vif	Jaune		Ag+		Brun
Ca++	Blanc bleuté	Incolore		Na+	Violet	Incolore
Ce+++	Violet foncé	Brun clair		Sr++	Blanc bleuté	
Cr+++	Violet	Vert clair		Th++++	Jaune-vert	Jaune
Co+++	Noir	Noir		Sn++	Jaune sale	Jaune
Cu++	Noir	Brun		Sn++++	Bleu	Incolore
Fe+++	Noir	Noir		Ti++++	Noir	Jaune
Pb+-	Gris foncé	Brun sombre		U++++++	Noir	Orange
Li+	Violet	Incolore		V+++++		Brun
Mg++	Blanc			Zn++	Jaune vif	Incolore

Nota : les soulignages indiquent les intensités relatives des couleurs obtenues.

Limite de sensibilité (en microgrammes)

	Co	Fe	Ni	Th	U	Zn
1°) en U. V.	0,1	0,2	0,5	1	0,5	1
2°) en lumière blanche	0,1	0,3	0,5		2,5	

De cette façon, des séparations qui, autrement, seraient très lentes, peuvent se produire dans des temps raisonnables.
Par contre, la constante R_f n'a plus de signification.

Mode opératoire :

Verser dans la cuve la quantité de solvant que précédemment.
Placer la gouttière à la partie supérieure du cadre ; y verser le même solvant.
Le bord supérieur du papier doit plonger dans la gouttière où il sera maintenu à l'aide d'une tige de verre placée au fond.

La ligne de départ sur laquelle on fera les "touches" doit donc être tracée à une distance du bord telle qu'elle se trouve hors du solvant.
Le bord opposé de la feuille sera découpé en dents de scie dont les pointes affleureront au niveau du solvant sans le toucher pour éviter un mouvement ascensionnel de celui-ci qui s'opposerait au mouvement descendant recherché.

A partir de là, l'expérience sera menée comme en chromatographie ascendante.

4 Chromatographie en phase inverse

Il y a de nombreux cas où la solubilité de l'échantillon dans l'eau est telle que la séparation se fait très lentement. On peut y remédier en imprégnant le papier d'un produit non miscible dans l'eau, peu volatile ou peu mobile par lui-même comme l'huile de castor, ou l'huile siliconée, etc.
Dissoudre ce produit dans un solvant volatile, comme l'éther, et plonger complètement le papier dans ce mélange. Evaporer à fond le papier qui reste imprégné d'une phase immobile 'hydrophobe".
On peut alors utiliser l'eau comme phase mobile donnant des séparations rapides.

5 Service après vente

Pour renseignements, veuillez contacter :

JEULIN - SUPPORT TECHNIQUE
Rue Jacques Monod
BP 1900
27 019 EVREUX CEDEX FRANCE
0 825 563 563 *
* 0,15 € TTC/ min à partir d'un poste fixe

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts à votre disposition du Lundi au Vendredi (8h30 à 17h30)

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge immédiatement votre appel pour vous apporter une réponse adaptée à votre domaine d'expérimentation : Sciences de la Vie et de la Terre, Physique, Chimie, Technologie .

Service gratuit *

0825 563 563 *choix n° 3.* **

** Hors coût d'appel : 0,15 € ttc / min. à partir d'un poste fixe.*

*** Numéro valable uniquement pour la France métropolitaine et la Corse.*

Pour les Dom-Tom et les EFE, utilisez le + 33 (0)2 32 29 40 50

Direct connection for technical support

A team of experts at your disposal from Monday to Friday (opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request immediatly to provide you with the right answers regarding your activity field : Biology, Physics, Chemistry, Technology .

Free service *

+ 33 (0)2 32 29 40 50**

** Call cost not included*

*** Only for call from foreign countries*

Aide en ligne :

www.jeulin.fr

Rubrique FAQ

JEULIN

Rue Jacques-Monod,
Z.I. n° 1, Netreville,
BP 1900, 27019 Evreux cedex,
France

Tél. : + 33 (0)2 32 29 40 00
Fax : + 33 (0)2 32 29 43 99
Internet : www.jeulin.fr - support@jeulin. fr

Phone : + 33 (0)2 32 29 40 49
Fax : + 33 (0)2 32 29 43 05
Internet : www.jeulin.com - export@jeulin.fr

SA capital 3 233 762 € - Siren R.C.S. B 387 901 044 - Siret 387 901 04400017